

山形医学 2015 ; 33(1) : 1-8

脂肪乳剤の血管弛緩および収縮機能に対する影響

阿曾吉孝, 山下真里奈, 小野真太郎, 片野由美, 石幡 明

山形大学医学部看護病態機能学
(平成26年11月12日受理)

要 旨

【背景・目的】我が国では、高血圧や糖尿病、脂質異常症などの生活習慣病が増加している。脂質異常症の中でも高中性脂肪血症（高TG血症）が内皮機能に与える影響については不明な点が多い。そこで、本研究では高TG条件下でアセチルコリン、ニトロプルシド、フェニレフリン、アンジオテンシンIIによる血管弛緩および収縮反応をラット摘出大動脈標本を用いて測定し、高TG血症が血管平滑筋と内皮機能に与える影響を検討した。

【研究方法】実験は山形大学医学部動物実験指針を遵守して行った。5～6か月齢の雄性Fischer344ラットから胸部大動脈を摘出し、作製した内皮無傷標本および除去標本をKrebs-Henseleit液を満たしたorgan bathに懸垂した。標本をコントロール群とイントラファット処置群に無作為に分け、両群共に1時間安定させてからアセチルコリン、ニトロプルシドによる弛緩反応、フェニレフリンおよびアンジオテンシンIIに対する収縮反応を測定した。

【結果】内皮無傷標本ではイントラファット処置群のアセチルコリンに対する弛緩反応が減弱した。また、フェニレフリン、アンジオテンシンIIによる血管収縮反応は有意に増強した。一方、内皮除去標本ではニトロプルシド、フェニレフリン、アンジオテンシンIIいずれに対しても血管弛緩および収縮反応に有意差は見られなかった。

【考察】高TG血症は血管内皮機能障害をおこすことでムスカリン受容体を介した弛緩反応の減弱と $\alpha 1$ 、ATII受容体を介した収縮反応の増強を惹起することが示唆された。

キーワード：脂質異常症、高中性脂肪血症、血管内皮細胞

1. 緒 言

高中性脂肪血症（高TG血症）とは血清triglyceride (TG) 値が150 mg/dL以上の状態のことを定義し¹⁾、TG値の上昇は冠動脈疾患や動脈硬化症の進展と関連があると報告されている^{2)–4)}。我が国では食生活の欧米化や動物脂肪摂取量の増加に伴い脂質異常症や高血圧、糖尿病などの生活習慣病が増加している。生活習慣病に伴う冠動脈疾患や動脈硬化症は、致命的な疾患である虚血性心疾患や脳血管疾患を誘発する可能性があるため、その予防や病態についての研究は重要である。

生活習慣病の基礎となる病態の1つに脂質異常症がある。正常な血管は血管内皮細胞によって活動が調節されている。血管内皮細胞は血液成分が血管壁へ侵入

することを防止する障壁としての役割を持つと同時に、血液の凝固を阻止する機能やエンドセリンやNOを産生することで血管平滑筋の収縮、拡張を調節する機能を持っている⁵⁾。しかし、脂質異常症が進行すると血管内皮機能障害を惹起し⁶⁾、動脈硬化症を誘発させることで致命的な疾患である脳血管疾患や冠動脈疾患を発生させる⁷⁾。動脈硬化症は主に変性リポタンパク質、特に血管壁内部に透過したlow density lipoprotein (LDL) の酸化、酸化LDLのマクロファージ(M ϕ)による貪食と酸化LDLを取り込んだM ϕ の内皮下での泡沫細胞化とそのアポトーシスや、Tリンパ球やM ϕ などの炎症細胞の活性化によるIL-1やTNF- α などの炎症性サイトカインによる血管平滑筋増殖に伴う血管の肥厚によって引き起こされると報告されている^{8)–10)}。このように今まで動脈硬化症は、主

に酸化LDLによって生じるものと考えられてきた。

しかし、近年LDLコレステロール値だけではなくTG値も冠動脈疾患の発生に関与しているのではないかという報告も多い。たとえば、2004年のAsia Pacific Cohort Studies Collaborationにおけるアジア・太平洋地域での26コホート研究のメタアナリシス（男女9.6万人）によると、TG値62mg/dL以下群に対するTG値168mg/dL以上群の冠動脈疾患のリスクは1.8倍有意に高かった¹¹⁾。また2009年のJapan Public Health Center-based prospective Studyにおける約2.3万人の追跡調査で、空腹時TG値150mg/dL以上群は、空腹時TG値150mg/dL未満群に比べて、男性の冠動脈疾患発生のリスクが1.8倍有意に高かった¹²⁾。このように冠動脈疾患と高TG血症の関連が示唆されており、高TG血症と冠動脈疾患の関連するメカニズムとして肝臓での異化によって生じるvery low-density lipoprotein (VLDL) とTGの豊富なレムナントによる内皮下でのMφの泡沫細胞化が動脈硬化症を発生させて冠動脈疾患のリスクを高める可能性が指摘されている¹³⁾。

また、長期間の高TG血症だけでなく短期間の高脂肪と高スクロース食の摂取による血中TG値と遊離脂肪酸値の上昇によってラット血管内皮機能障害が生じることも示唆されており、短期間の高脂肪と高スクロース食の摂取では血糖値は上昇しなかったと報告されている¹⁴⁾。更に、高TG血症が動脈硬化症の最初期の病変である血管内皮機能障害を惹起する可能性についての報告がされている。例えば高TG血症では血管内皮依存性の血管弛緩機能が減弱されること^{15)–19)}が示唆されている。また、高TG血症によって血管内皮依存性の弛緩機能が減弱するだけでなく、イソプロテレノールによる血管平滑筋の弛緩機能が減弱すること²⁰⁾も報告されている。一方、高TG血症状態であっても血管内皮機能は保持されること²¹⁾や血管内皮機能障害はTGの上昇によるものではないこと²²⁾も示唆されており、TGが血管の弛緩および収縮機能にどのような影響を与えるかについて不明な点が多い。そこで、本研究では脂肪乳剤であるイントラファット*1を用いて高TG血症状態を作製し、アセチルコリンとニトロプルシドによる血管弛緩反応、およびフェニレフリンとアンジオテンシンII (Ang II) による収縮反応を測定することで、高TG血症状態が血管平滑筋と血管内皮機能に変化をもたらすか、またTGそのものが血管内皮機能障害を惹起するかラット摘出胸部大動脈を用いて検討した。

2. 研究方法

2.1. 倫理的配慮

実験は山形大学動物実験規定（平成19年山形大学医学部規定第114号）、動物愛護および管理に関する法律（昭和48年法律第105号）、実験動物の使用及び保管等に関する基準（昭和55年総理府告示第6号）を遵守して行った。

2.2. 摘出血管標本の作製

実験には、5～6か月齢の雄性Fischer344ラットを用いた。ラットをエーテル麻酔下ですみやかに頸椎脱臼後、開胸し、胸部大動脈を摘出した。摘出した大動脈を冷却したKrebs-Henseleit液に浸し、血液を洗い流した後、付着している脂肪とその他の雑組織を除去し、幅約2.0mm、直径約2.0mmのリング標本作製した。血管内皮除去標本は鉗子で血管内皮細胞を剥離して作製した。それぞれの標本を混合ガス（95% O₂ – 5% CO₂）で通気したKrebs-Henseleit液（37±0.1℃, pH7.4）を満たした10mlのorgan bathに懸垂し、等尺性張力を等尺性張力トランスデューサー（7T-15-240、オリエンテック、東京）を用いて測定した。Krebs-Henseleit液（mM）の組成はNaCl118, KCl4.7, NaHCO₃ 24.9, MgSO₄ 1.18, KH₂PO₄ 1.18, glucose 11.1, CaCl₂ 1.8である。血管標本はorgan bathに懸垂した後、1.0gの等尺性張力を負荷し、約1時間標本を安定させた。この間、15分間隔で新しいKrebs-Henseleit液と交換した。

安定後、KCl（66.7 mM）で血管の最大収縮を測定し、α1受容体作動薬であるフェニレフリン（1×10⁻⁶M）で前収縮させ、収縮が安定した時点でムスカリン受容体作動薬であるアセチルコリン（1×10⁻⁹ – 1×10⁻⁵M）を累積投与し、弛緩率が70%以上あったものを血管内皮無傷標本、弛緩率10%以下のものを血管内皮除去標本とした。

2.3. コントロール群、イントラファット群の作製

Krebs-Henseleit液に生理食塩水を150μL加えたものをコントロール群とし、Krebs-Henseleit液に脂肪乳剤であるイントラファット（日本製薬）を150μL加えたものをイントラファット（1.5%）群とした。イントラファットの脂肪組成は大豆油200g/L中にリノール酸55%、リノレン酸8%、オレイン酸25%、パルミ

*1 現在イントラファットは販売が終了し、後継薬はイントラリピッドやイントラリポスである。

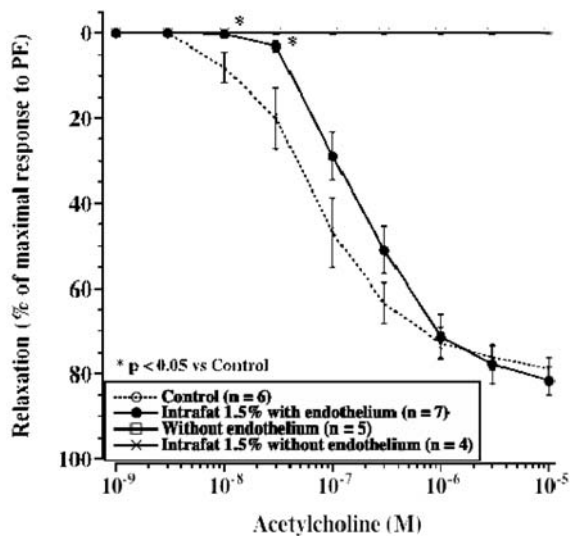


図1. 血管内皮無傷標本、血管内皮除去標本でのアセチルコリンによる血管弛緩作用
縦軸：フェニレフリン (1×10^{-6} M) による収縮を100%としたときの弛緩率
横軸：アセチルコリンの濃度
PE：フェニレフリン

なお、Without endothelium, Intrafat 1.5% without endotheliumではすべて弛緩率が0%であるため線が重なっている。

チン酸8.5%、ステアリン酸3%、その他0.5%である。なお、この状態はTG 300 mg/dLの高TG状態に相当する。コントロール群、イントラファット群共に、処置後1時間安定させ、アセチルコリン、ニトロプルシドによる血管弛緩反応、フェニレフリンおよびAIIに対する血管収縮反応を測定した。

2.4. 統計処理

得られたデータは、F検定による等分散の検定を行った後、等分散の場合は対応のないStudent's *t*-testを、不等分散の場合はWelch's *t*-testを用いて検定した。それぞれの値は、すべて平均値±標準誤差で表現し、危険率 $p < 0.05$ の場合に有意差がありとした。

3. 結 果

3.1. 血管内皮無傷標本でのアセチルコリンによる血管弛緩作用 (図1)

フェニレフリン (1×10^{-6} M) によって得られた最大収縮を100%とし、その値を弛緩率計測の基準とした。弛緩率はアセチルコリン (1×10^{-8} M, 3×10^{-8} M)

の添加によりコントロール群で、それぞれ $8.09 \pm 3.3\%$, $20.10 \pm 6.4\%$ 、イントラファット処置群で、それぞれ $0.29 \pm 0.3\%$, $3.11 \pm 1.4\%$ と、高TGによりアセチルコリン累積投与に対する血管弛緩反応が有意に減弱した。他の濃度では有意差はみられなかった。

3.2. 血管内皮無傷標本でのフェニレフリンによる血管収縮作用 (図2)

KCl (66.7 mM) による最大収縮力の値を100%として表した収縮率はフェニレフリン (3×10^{-7} M– 3×10^{-5} M) の添加によりコントロール群で、それぞれ $28.9 \pm 5.8\%$, $44.0 \pm 3.8\%$, $55.1 \pm 3.8\%$, $63.5 \pm 4.3\%$, $67.6 \pm 4.9\%$ 、イントラファット処置群で、 $66.9 \pm 12.7\%$, $89.3 \pm 8.2\%$, $102.8 \pm 7.7\%$, $112.0 \pm 6.9\%$, $116.5 \pm 5.8\%$ と高TGによりフェニレフリン累積投与に対する血管収縮反応が有意に増強した。他の濃度では有意差はみられなかった。

3.3. 血管内皮無傷標本でのAIIによる血管収縮作用 (図3)

KCl (66.7 mM) による最大収縮力の値を100%として表した収縮率はAII (1×10^{-7} M) の添加によりコントロール群で、 $16.7 \pm 3.0\%$ 、イントラファット群で、 $39.5 \pm 7.6\%$ と、高TGによりAII投与に対する血管収縮反応も有意に増強した。

3.4. 血管内皮除去標本でのフェニレフリンおよびAIIによる血管収縮作用 (図2, 3)

KCl (66.7 mM) による最大収縮力の値を100%として表した収縮率はフェニレフリンの最終濃度 (3×10^{-5} M) においてコントロール群で、 $109.9 \pm 3.8\%$ 、イントラファット群で、 $102.2 \pm 4.4\%$ であった。AII (1×10^{-7} M) でKCl (66.7 mM) に対する収縮率がコントロール群で $41.5 \pm 7.4\%$ 、イントラファット群で $32.5 \pm 7.7\%$ であった。血管内皮除去標本では累積投与したフェニレフリン (1×10^{-9} M– 3×10^{-5} M) の全ての濃度、およびAII (1×10^{-7} M) で血管収縮反応に有意差は見られなかった。

3.5. 血管内皮除去標本でのニトロプルシドによる血管弛緩作用 (図4)

フェニレフリン (1×10^{-6} M) によって得られた最大収縮を100%とし、その値を弛緩率計測の基準とした。弛緩率はニトロプルシドの最終濃度 (1×10^{-6} M) でコントロール群では $94.96 \pm 2.6\%$ 、イントラファット群では $97.9 \pm 1.4\%$ であった。累積投与したニトロ

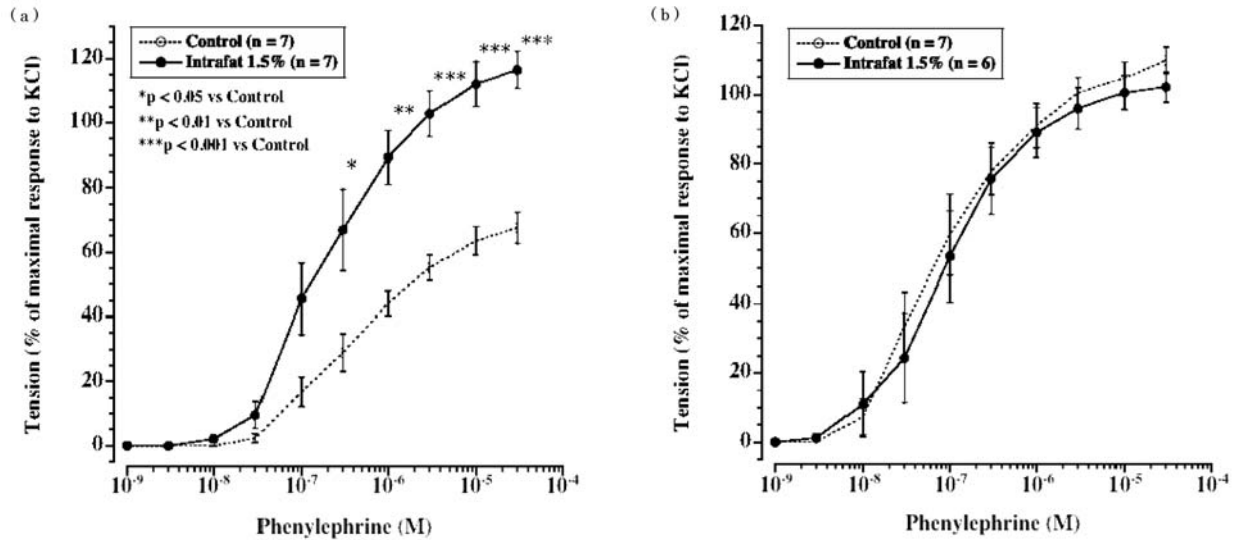


図2. (a) 血管内皮無傷標本、(b) 血管内皮除去標本でのフェニレフリンによる血管収縮作用
 縦軸: KCl (66.7mM) による最大収縮を100%とした収縮率
 横軸: フェニレフリンの濃度

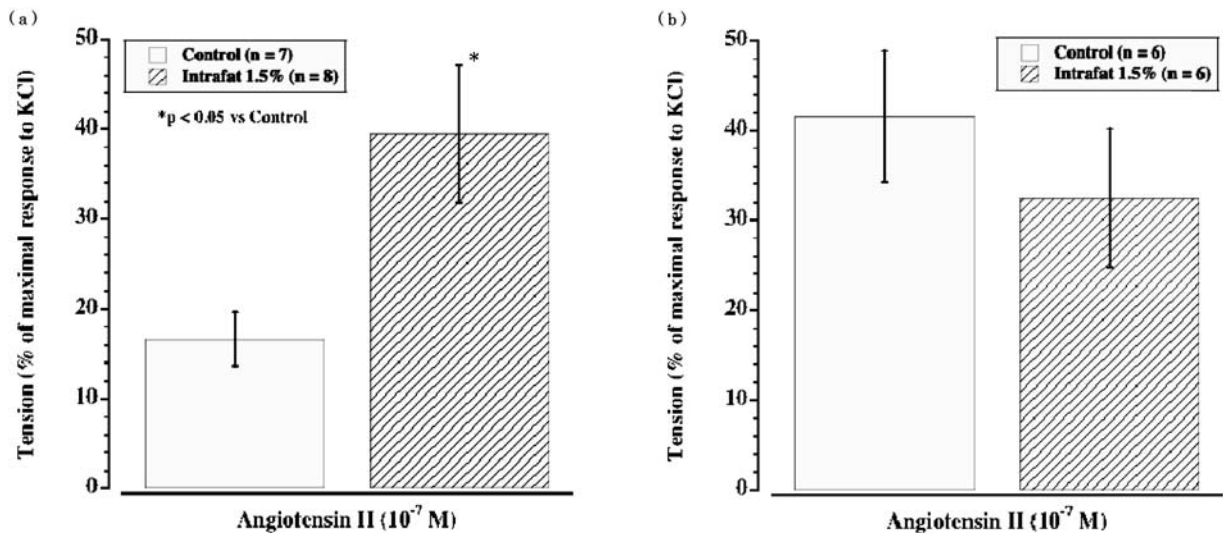


図3. (a) 血管内皮無傷標本、(b) 血管内皮除去標本でのアンジオテンシンIIによる血管収縮作用
 縦軸: KCl (66.7 mM) による最大収縮を100%とした収縮率
 横軸: アンジオテンシンIIの濃度

プルシド (1×10^{-10} M– 1×10^{-6} M) 全ての濃度で血管弛緩反応に有意差はみられなかった。

4. 考 察

4.1. イントラファット処置が血管内皮、血管平滑筋に与える影響

血管内皮無傷標本はアセチルコリンによる血管内皮細胞を介した血管弛緩反応がイントラファット処置に

よって有意に減弱した。フェニレフリンによる血管収縮反応、およびAIIによる血管収縮反応は、イントラファット処置によって有意に増強した。このとき、イントラファット処置群のフェニレフリンによる収縮反応は、血管内皮除去標本の収縮反応とほぼ同様の濃度反応曲線を描いた (図2)。またAIIでもイントラファット処置群の収縮反応は、血管内皮除去標本の収縮反応とほぼ同様の最大収縮反応を示した (図3)。これはイントラファット処置によって血管内皮細胞を

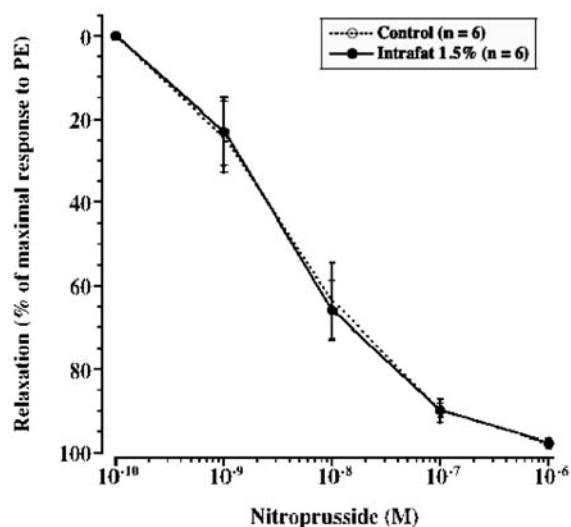


図4. 血管内皮除去標本でのニトロプルシドによる血管弛緩作用

縦軸：フェニレフリン (1×10^{-6} M) による収縮を100%としたときの弛緩率

横軸：ニトロプルシドの濃度

介した血管弛緩物質の産生が抑制されることで弛緩反応の減弱が惹起された結果、収縮反応が増強したものと考えられる。一方、血管内皮除去標本ではニトロプルシドに対する血管弛緩反応に差はなかったことから血管平滑筋のNO感受性は高TG血症状態による影響を受けないものと考えられる。

4.2. 血管内皮機能障害が生じる機序

今回、我々の研究では高TG血症状態が動脈硬化症の初期病変である血管内皮機能障害を惹起することで、動脈硬化症を誘発する独立因子となる可能性が示唆された。高TG血症状態が血管内皮機能障害を発生させた機序は次の(1)～(3)の経路が考えられる。

(1)高TGによるeNOSの抑制

今回の研究と同様に脂肪乳剤を用いて高TG環境を作製した研究では内皮依存性血管弛緩反応の減弱とともにeNOSが抑制されていたという報告^{23)–26)}がある。Lundman Pらの報告では人から抽出したVery low density lipoprotein (VLDL) は血管内皮機能障害を惹起せず、脂肪乳剤であるイントラリピッドを加え1%の濃度を作製して20分間処置したときに内皮依存性血管弛緩反応を減弱させる可能性を示唆しており²³⁾、20分間の脂肪乳剤の処置で血管内皮機能障害が生じたことは今回の我々の結果を支持するものと考えられる。また、Edirisinghe Iらの報告では、飽和脂肪酸である

パルミチン酸やステアリン酸が混合されている脂肪乳剤を1時間処置した状態では活性酸素種 (ROS) を発生させることでeNOSを抑制し内皮依存性血管弛緩反応の減弱を惹起させる。しかし、脂肪乳剤に含まれるパルミチン酸やステアリン酸を脂肪乳剤から除外することによって内皮依存性血管弛緩反応の減弱が緩和される可能性を示唆している²⁵⁾。更に、Vickle GVらの報告においてもパルミチン酸やステアリン酸などの飽和脂肪酸処置によってeNOSが抑制される可能性が示唆されている²⁶⁾。これらの報告はパルミチン酸、ステアリン酸など飽和脂肪酸が混合されているイントラファットを用いて高TG状態を作製した今回の実験条件、高TG状態により内皮依存性血管弛緩反応が減弱した実験結果と一致するものであり、本研究においても高TG状態がeNOSを抑制した可能性が考えられる。

(2)ROSによる血管内皮機能への影響

高TG処置による血管内皮依存性の血管弛緩反応の減弱とともにROSの増加が報告されている^{27)–29)}。Inoguchi Tらの報告では、3時間のパルミチン酸処置によってProtein kinase C (PKC) 依存性にNADPH oxidaseが活性化することでROS産生が増加し、血管内皮機能障害と血管平滑筋機能障害が惹起された可能性を示唆している²⁷⁾。また、Niu Xらの報告では、10分間のオレイン酸処置によって血管内皮依存性の血管弛緩反応が減弱したが、ROSの分解酵素であるSuperoxide dismutase (SOD) 処置によりROSを除去することで血管弛緩反応の減弱が改善される可能性を示唆している²⁸⁾。更に、Pleiner Jらの報告によると、脂肪乳化剤の処置によって生じる血管内皮機能障害がVitamin Cの抗酸化作用により改善される可能性が示唆されている²⁹⁾。パルミチン酸、オレイン酸は、今回の実験で高TG血症状態を作製するために加えたイントラファットにも含まれている成分であり、本研究においても1時間の高TG処置によりROSが増加することで血管弛緩反応の減弱が生じた可能性も考えられる。

(3) 高TGによる血管内皮細胞の損傷

高TG環境によって血管内皮細胞のアポトーシスが促されるという報告がある^{30)–31)}。これらの研究では24～72時間の高TG処置により血管内皮細胞のアポトーシスが惹起され、それはインスリンによって改善されることを報告している³¹⁾。今回の我々の研究はインスリン非存在下で行われているが、これらの報告は24～72時間と長時間の高TG処置のもとで行われている。また、3時間の高TG処置により血管内皮細胞のアポトーシス促進性因子、炎症促進性因子である

activating transcription factor 3 (ATF3) の発現を促すことで血管内皮細胞のアポトーシスを惹起することも報告されている³²⁾。今回の我々の研究は1時間の高TG処置であり、これらの報告よりも処置時間が短いため今後確認する必要性はあるがアポトーシスまで進行している可能性は低いと考えられる。

5. 結 語

今回の研究では、高TG血症状態によって血管内皮依存性のアセチルコリンによる血管弛緩反応の減弱が生じる可能性を示唆した。また、血管内皮依存性の血管弛緩物質の産生を減弱させる結果、血管内皮細胞存在下でフェニレフリンやアンジオテンシンIIによる血管収縮反応を増強させる可能性を示唆した。しかし、受容体情報伝達系のどの部分がTGの影響を受けるのかについての詳細な機序に関しては未だ不明な点が多い。その点を解明していくためには、血管弛緩反応や血管収縮反応を測定するだけでなく、血管の各種受容体発現との関連を調べる必要がある。高TG血症と動脈硬化症の関係について研究を進めることは、今後の動脈硬化の初期病変に対する治療や予防に繋がるため、更に研究を発展させていくことが重要だと考えられる。

文 献

1. 日本動脈硬化学会：動脈硬化症疾患予防ガイドライン，2012年版，2012
2. Sharrett AR, Chambless LE, Heiss G, Paton CC, Patsch W: Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with asymptomatic carotid artery atherosclerosis in middle-aged men and women. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 2122-2129
3. Boquist S, Ruotolo G, Tang R, Bjorkegren J, Bond MG, Faire U, et al.: Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. *Circulation* 1999; 100: 723-728
4. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Hansen A: Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA* 2007; 298: 299-308
5. Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, et al.: Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998; 91: 3527-3561
6. Engler MM, Engler MB, Malloy MJ, Chiu EY, Schloetter MC, Paul SM, et al.: Antioxidant vitamins C and E improve endothelial function in children with hyperlipidemia. Endothelial Assessment of Risk from Lipids in Youth (EARLY) trial. *Circulation* 2003; 108: 1059-1063
7. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T: Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 2673-2678
8. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809
9. Lusis AJ: Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-241
10. Libby P: Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874
11. Patel A, Barzi F, Jamrozik K, Lam TH, Ueshima H, Whitlock G, et al.: Serum triglycerides as a risk factor for cardiovascular diseases in the asia-pacific region. *Circulation* 2004; 110: 2678-2686
12. Noda H, Iso H, Saito I, Konishi M, Inoue M, Tsugane S: The impact of the metabolic syndrome and its components on the incidence of ischemic heart disease and stroke: the japan public health center-based study. *Hypertens Res* 2009; 32: 289-298
13. Cohn JS, Marcoux C, Davignon J: Detection quantification, and characterization of potentially atherogenic triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2474-2486
14. Naderali EK, Williams G: Prolonged endothelial-dependent and independent arterial dysfunction induced in the rat by short-term feeding with a high-fat, high-sucrose diet. *Atherosclerosis* 2003; 166: 253-259
15. Man FH, Weverling-Rijnsburger AW, Laarse A, Smelt AH, Jukema JW, Blauw GJ: Not acute but chronic hypertriglyceridemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation reversal after lipid-lowering therapy by atorvastatin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 744-750
16. Bartus M, Lomnicka M, Lorkowska B, Franczyk M, Kostogrys RB, Pisulewski PM, et al.: Hypertriglyceridemia but not hypercholesterolemia induces endothelial dysfunction in the rat. *Pharmacol Reports* 2005; 57: 127-137
17. Lewis TV, Dart AM, Chin-Dusting JP: Endothelium-

- dependent relaxation by acetylcholine is impaired in hypertriglyceridemic humans with normal levels of plasma LDL cholesterol. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 805-812
18. Kusterer K, Pohl T, Fortmeyer HP, Marz W, Scharnagl H, Oldenburg A, et al.: Chronic selective hypertriglyceridemia impairs endothelium-dependent vasodilation in rats. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 783-793
19. Bae JH, Bassenge E, Kim KB, Kim YN, Kim KS, Lee HJ, et al.: Postprandial hypertriglyceridemia impairs endothelial function by enhanced oxidant stress. *Artherosclerosis* 2001; 155: 517-523
20. Shishido T, Tasaki K, Takeishi Y, Takasaki S, Miyamoto T, Itoh M, et al.: Chronic hypertriglyceridemia in young watanabe heritable hyperlipidemic rabbits impairs endothelial and medial smooth muscle function. *Life Sci* 2004; 74: 1487-1501
21. Chowienzyk PJ, Watts GF, Wierzbicki AS, Cockcroft JR, Brett SE, Ritter JM: Preserved endothelial function in patients with severe hypertriglyceridemia and low functional lipoprotein lipase. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 964-968
22. Schnell GB, Robertson A, Houston D, Malley L, Anderson TJ: Impaired brachial artery endothelial function is not predicted by elevated triglycerides. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 2038-2043
23. Lundman P, Tornvall P, Nilsson L, Pernow J: A triglyceride-rich fat emulsion and free fatty acids but not very low density lipoproteins impair endothelial-dependent vasorelaxation. *Artherosclerosis* 2001; 159: 35-41
24. Li H, Li H, Bao Y, Zhang X, Yu Y: Free fatty acids induce endothelial dysfunction and activate protein kinase C and nuclear factor- κ B pathway in rat aorta. *International J Cardiol* 2011; 152: 218-224
25. Edirisinghe I, Hallam KM, Kappagoda T: Effect of fatty acids on endothelium-dependent relaxation in the rabbit aorta. *Clin Sci* 2006; 111: 145-151
26. Vickle GV, Laughlin MH, Hamilton M: The effect of free fatty acids on endothelial cells. *UMC Master Sci* 2005; 42-62
27. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu H, Kakimoto M, Imamura M, et al.: High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes* 2000; 49: 1939-1945
28. Niu XL, Liu LY, Hu ML, Chen X: Some similarities in vascular effects of oleic acid and oxidized low-density lipoproteins on rabbit aorta. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 531-539
29. Pleiner J, Schaller G, Mittermayer F, Bayerleeder M, Roden M, Wolzt M: FFA-induced endothelial dysfunction can be corrected by vitamin C. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2913-2917
30. Ido Y, Chaling D, Rundeman N: Hypertriglyceridemia-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells. Inhibition by the AMP-activated protein kinase activation. *Diabetes* 2002; 51: 159-167
31. Piro S, Spampinato D, Spadaro L, Oliveri CE, Purrello F, Rabuazzo AM: Direct apoptotic effects of free fatty acids on human cells. *Nutrition Metabolism & Cardiovasc Diseases* 2008; 18: 96-104
32. Aung HH, Lame MW, Gohil K, An CI, Wilson DW, Rutledge JC: Induction of ATF3 gene network by triglyceride-rich lipoprotein lipolysis products increases vascular apoptosis and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 2088-2096

Effects of fat emulsion on the vascular relaxing and contractile function of rat aorta

Yoshitaka Aso, Marina Yamashita, Shintaro Ono, Yumi Katano, Akira Ishihata

Division of Theoretical Nursing and Pathophysiology, Yamagata University

ABSTRACT

Dyslipidemia is closely related to various diseases such as atherosclerosis, hypertension, angina pectoris and myocardial infarction. In contrast to hypercholesterolemia, the role of hypertriglyceridemia is controversial and not elucidated in detail. In this study, the effect of triglyceride on the vascular relaxing and contractile function were examined. Thoracic aortas were isolated from male Fischer 344 rats (5-6 months old) and ring preparations with or without endothelium were suspended in 10 ml of organ baths filled with modified Krebs-Henseleit solution. The ring preparations were divided into two groups (control and hypertriglyceride group). In the hypertriglyceride group, the aortic ring preparations were incubated with 1.5% of Intrafat for one hour. The vascular relaxation was examined by the cumulative addition of acetylcholine in phenylephrine-precontracted preparation. The contractile responses to phenylephrine and angiotensin II were measured. The acetylcholine-induced relaxation was diminished and the contractile response was increased in endothelium-intact preparation of hypertriglyceride group. In endothelium-denuded preparation, the contractile response was not different between two groups. These results suggest that triglyceride could affect vascular function by inhibiting the production of endothelial relaxing substance such as nitric oxide.

Key words : dyslipidemia, hypertriglyceridemia, endothelium